

学校编码: 10384  
学号: 201200513020

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_  
UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

开发杜氏藻生物质能源的初步研究

Preliminary Studies on the Exploitation of  
Biomass Energy from *Dunaliella*

陈 昱

指导教师姓名: 刘广发 教授

专 业 名 称: 水生生物学

论文提交日期: 2008 年 4 月

论文答辩时间: 2008 年 6 月

学位授予日期: 2008 年 6 月

答辩委员会主席: 高亚辉 教授

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2008 年 6 月

厦门大学博硕士论文摘要库

# 厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。

本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密 ( ), 在            年解密后适用本授权书。

2、不保密 ( )

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名:

日期:    年   月   日

导师签名:

日期:    年   月   日

# 目 录

摘 要.....	1
Abstract.....	3
第一章 前 言 .....	5
1.1 能源、资源与环境 .....	5
1.2 生物质能源的开发利用 .....	6
1.3 生物质热解技术研究进展 .....	9
1.4 利用微藻制备生物燃料的研究进展 .....	11
1.5 环境因子对微藻脂类积累的影响 .....	14
1.6 本项目研究的主要内容和意义 .....	17
第二章 材料与方 法 .....	20
2.1 主要仪器与试剂 .....	20
2.2 藻种来源及其培养 .....	20
2.3 杜氏藻多株系的筛选实验 .....	22
2.4 培养条件对杜氏藻生长和脂类含量的影响 .....	25
2.5 高脂杜氏藻的诱变筛选与分析 .....	26
2.6 利用浓缩海水养殖杜氏藻 .....	28
2.7 杜氏藻油脂转化为生物柴油的研究 .....	29
2.8 杜氏藻热解制备生物油的研究 .....	29
第三章 结果与分析 .....	33
3.1 杜氏藻多株系的筛选 .....	33
3.2 培养条件对杜氏藻生长和脂类含量的影响 .....	36
3.3 高脂杜氏藻的诱变筛选与分析 .....	42
3.4 利用海水养殖杜氏藻 .....	49
3.5 利用杜氏藻油脂制备生物柴油 .....	54
3.6 利用杜氏藻热解制备生物油 .....	55
第四章 讨 论 .....	61
4.1 杜氏藻的脂类含量和组成 .....	61
4.2 环境因子对杜氏藻生长的影响 .....	62

4.3 低氮环境诱导杜氏藻脂类含量提高 .....	63
4.4 高脂杜氏藻的诱变及其培养 .....	64
4.5 利用海水养殖杜氏藻 .....	67
4.6 利用杜氏藻热解制备生物质能源 .....	67
第五章 小结与展望 .....	70
5.1 小结.....	70
5.2 展望.....	70
参考文献 .....	72
致谢.....	79
附录.....	80
附图.....	81

# Content

Chinese abstract.....	错误！未定义书签。
English abstract.....	错误！未定义书签。
1. Introduction.....	错误！未定义书签。
1.1 Energy, resources and environment.....	错误！未定义书签。
1.2 Development and utilization of biomass energy.....	错误！未定义书签。
1.3 Progress on research of biomass pyrolysis technology.....	错误！未定义书签。
1.4 Progress on research of production bio-fuel from microalgae.....	错误！未定义书签。
1.5 Effects of different factors on lipid accumulation of microalgae.....	错误！未定义书签。
1.6 Purpose and meaning of this project.....	错误！未定义书签。
2. Materials and Methods.....	错误！未定义书签。
2.1 Instruments and equipments .....	错误！未定义书签。
2.2 Source and culture for the tested species of <i>Dunaliella</i> .....	20
2.3 Screen of <i>Dunaliella</i> strains.....	错误！未定义书签。
2.4 Effects of different culture conditions on the growth and the lipid content of <i>Dunaliella</i> .....	25
2.5 Mutation and screen of <i>Dunaliella</i> with high content of lipid.....	错误！未定义书签。
2.6 Culture of <i>Dunaliella</i> by seawater. ....	28
2.7 Production of biodiesel from <i>Dunaliella</i> .....	29
2.8 Production of bio-oil from <i>Dunaliella</i> .....	29
3. Results and Analysis .....	33
3.1 The screening of <i>Dunaliella</i> strains .....	33
3.2 The effects of different culture conditions on the growth and lipid content of <i>Dunaliella</i> .....	36
3.3 The mutation and analyses of High lipid-content strains of <i>Dunaliella</i> ..	错误！未定义书签。
3.4 The seawater-cultivation of <i>Dunaliella</i> .....	49



3.5 The production of biodiesel from <i>Dunaliella</i> oil.....	54
3.6 The production of bio-oil from <i>Dunaliella</i> through pyrolysis错误！未定义书签。	
4. Discussion.....	61
4.1 Lipid content and composition of <i>Dunaliella</i> .....	61
4.2 Effects of environmental factors on the growth of <i>Dunaliella</i> 错误！未定义书签。	
4.3Rise of lipid content of <i>Dunaliella</i> depended on induction of Low-nitrogen environment.....	63
4.4 Mutation and culture of High lipid-content strains of <i>Dunaliella</i> 错误！未定义书签。	
4.5 Culture for <i>Dunaliella</i> by using of seawater. ....	67
4.6 Production of bio-energy from <i>Dunaliella</i> through pyrolysis错误！未定义书签。	
5. Conclusion and Expectation.....	70
5.1 Conclusion .....	70
5.2 Expectation .....	70
6. References.....	72
7. Acknowledgements .....	79
8. Appendix.....	80
9. Figure .....	81

## 摘要

生物质能源的开发利用是缓解我国能源和环境压力,建立可持续发展能源系统的有效措施。在众多生物质中,藻类具有生物量大、生长周期短、易培养以及脂类含量较高等特点,是制备生物质能源的良好材料。本实验选择杜氏藻(*Dunaliella*)作为研究对象,利用诱变育种、胁迫诱导和海水养殖等方法获得高脂含量的杜氏藻生物质原料。通过热裂解反应将其转化为生物油和可燃气等可再生生物质能源,初步建立了一条开发杜氏藻生物质能源的新途径。主要结果如下:

1. 对杜氏藻属(*Dunaliella*)的15个不同株系进行特定条件下的培养,在生长平衡期收获,采用索氏提取法测定其脂类含量。其中9株杜氏藻的脂类含量超过了干重的10%,达10.4~18.3%,其它6株在6.7~9.0%之间;

2. 通过正交实验研究了氮含量、温度、光照和盐度等因素对杜氏藻株系(NO.10和NO.15)生长和脂类含量的影响。结果表明,最适合杜氏藻生长的培养条件是:氮含量(5mmol/L)、温度(28℃)、光照(15 000lx)以及盐度(1.5mol/L);最适合杜氏藻脂类积累的培养条件是:氮含量(1mmol/L)、温度(33℃)、光照(25 000lx)以及盐度(0.5mol/L);

3. 采用紫外线照射的方法对杜氏藻 *Dunaliella bardawil* H-42(编号为NO.10)进行诱变。通过小剂量乙醚抽提和索氏提取法分析,得到两株脂类含量显著高于原出发株的突变株,分别命名为 *D.bardawil* H-42 var.HL-1(简称HL-1)和 *D.bardawil* H-42 var. HL-2(简称HL-2)。研究表明,HL-1和HL-2的脂类含量可达细胞干重的21.1%和20.5%,分别比对照提高了31.9%和28.1%。随机扩增多态性DNA(RAPD)分析表明,HL-1和HL-2与NO.10的遗传相似系数为分别为0.797和0.718,由此确认HL-1和HL-2均为NO.10的高脂突变株;

4. 利用海水对杜氏藻进行了室外养殖实验。结果表明,在周年养殖过程中,培养液的盐度、pH值以及微生物含量的变化情况都不影响杜氏藻的正常生长,可以获得较高的生物量和脂类产出。海水养殖可以成为一种大规模养殖杜氏藻的简单、经济的成功模式;

5. 以杜氏藻生物质为原料,利用自行设计研制的流化床反应器进行了热裂

解实验。结果显示,杜氏藻生物质原料被转化成了生物油、裂解气和焦炭等产物。通过正交实验研究了热解温度、热解时间和催化剂等反应参数对热解产物含量的影响规律,发现提高热解温度可以增加热解油、气的总产率,添加催化剂可以提高生物油的产出比例。利用杜氏藻的高脂突变株 HL-1 和 HL-2 热解获得了高产量的生物油,产油率分别为 51.3%和 52.4%,生物油热值可达 34MJ/kg 和 35MJ/kg,大约是木材的 2 倍;同时获得了一定量的裂解气体(产率为 25.6%和 20.9%),其中可燃气体的比例含量分别占总裂解气的 58.96%和 65.10%;最终所获的生物质能源的总产率分别可达 76.9%和 73.3%。

关键词:杜氏藻;脂类;诱变;热解;生物油

## Abstract

The exploitation and utilization of biomass energy is an effective stratagem for relieving the pressure from conventional energy shortage and environment and establishing the sustainable energy system. Among biomass, microalga is suggested as a very good candidate for biomass energy production because of the advantage of larger biomass, faster growth and higher content of lipid components etc. In this paper, *Dunaliella*, a group of halophilous algae, was used as a bioenergy producer. High lipid-content in the cells of *Dunaliella* was obtained after environment-stress inducement and/or UV mutation. Most of the organic materials in the cells can be easily converted into renewable bio-oil and gases after pyrolysis. All of the main results were showed as follows:

1. Fifteen species/strains of *Dunaliella* were cultured under defined conditions and harvested during their equilibrium phase of the growth curves. Total lipid contents of the cells were determined by the Soxhlet procedure. The experiment results suggested that lipid contents of nine species/strains of *Dunaliella* were more than 10% of their dry weight (10.4~18.3%) with the exception of six species/strains were 6.7~9.0% respectively.

2. To find out the best suitable conditions for cell division and lipid accumulation of *Dunaliella*, two strains, designated as NO.10 and NO.15, were studied together using orthogonal test. As a result, we found that 5mmol/L of nitrogen, 28°C, 15 000 lx of light intensity and 1.5mol/L of salinity were the best conditions for their growth, while the cultured condition of 1mmol/L of nitrogen, 33°C, 25 000 lx of light intensity and 0.5mol/L of salinity would induced the highest lipid accumulation.

3. Two mutant strains of *Dunaliella bardawil*. H-42 (numbered as.10), with the character of high lipid-content, have been isolated and identified after ultraviolet radiation. They were denominated as *D.bardawil* H-42 var.HL-1 (simply as HL-1) and *D.bardawil* H-42 var.HL-2 (simply as HL-2), respectively. Lipid contents were determined by the soxhlet procedure. The results showed that total lipid contents of HL-1 and HL-2 were 21.1% and 20.5% (dry weight), which were increased as high as 31.9% and 28.1%, respectively. The RAPD test revealed that the genetic similarity

between NO.10 and its mutant strain HL-1 and HL-2 was 0.797 and 0.718, respectively.

4. We tried to culture *Dunaliella* outdoor by using of concentrated seawater with additional inorganic nutrients around one year. The results indicated that *Dunaliella* could suffer from the annual variation of temperature, sunlight, salinity, pH and the amount of bacteria of the seawater media and had a good harvest of biomass and lipid. Outdoor seawater-cultivation can be regarded as a simple and economical model system for large-scale culture of *Dunaliella*.

5. The pyrolysis experiments of the biomass of *Dunaliella* were conducted in a fluid bed reactor. The main parameters of reaction temperature, reaction period and the quantities of catalyzer have been known according to a series of orthogonal experiments. In the exposure period the materials of algae powder were converted into a variety of products including charcoal, bio-oil and gases. It could be proved that the yield of bio-oil converted from the high lipid-content *Dunaliella* strains (HL-1& HL-2) could reach as high as 51.3~52.4% (dry weight). It is surprise that the bio-oil originated from *Dunaliella* displayed a higher caloric value (34MJ/kg~35MJ/kg), which was about 2 times of wood. The yield of pyrolysis gas could reach as high as 20.9~25.6% (dry weight). The total yield of bio-energy could reach as high as 73.3~76.9% (dry weight).

Keywords: *Dunaliella*; lipid; mutant; pyrolysis; bio-oil

## 第一章 前言

### 1.1 能源、资源与环境

自 20 世纪 70 年代能源危机以来,人们越来越清楚地认识到能源资源的开发和利用正面临着严峻的形势。依据目前全球化石能源的消费速度以及对石油、煤炭、天然气的贮量和开采时限进行估算与推测:石油还可以持续开采 41 年,天然气为 54 年,煤炭为 155 年<sup>[1]</sup>。尽管随着时间的推移和技术的进步,还会发现新的油气田,而且开采方法也在不断改进,但石油和天然气将在 21 世纪中叶趋于枯竭<sup>[2]</sup>,化石燃料终将耗尽将成为无可争辩的事实。另一方面,为了满足人类社会的发展,能源需求在不断地增加。Ragauskas 等<sup>[3]</sup>(2006)就指出,到 2050 年,能源的需求将比现在增加 50%。能源匮乏,甚至是能源危机,与能源需求增长之间的矛盾已经成为影响人类社会发展的重大难题。

与此同时,传统化石燃料的大量开采使用,已经呈现出极为严重的环境问题<sup>[1]</sup>。尤其近些年倍受关注的全球气候变暖问题,在很大程度上正是由化石燃料燃烧大量排放 CO<sub>2</sub> 等温室气体所引起的。化石燃料的过度开采和利用也导致大气中对环境和人类健康危害严重的 SO<sub>2</sub> 和氮氧化物(NO<sub>x</sub>)气体浓度的持续升高。据统计,近十几年来地球大气层中的气体成份已经发生了明显变化:空气中的 CO<sub>2</sub> 增加了 25%,NO<sub>x</sub> 增加了 19%,CH<sub>4</sub> 增加了 100%,大气中的 CFCs(氯氟烃)和 SO<sub>2</sub> 含量也有不同程度提高<sup>[4]</sup>。毋庸置疑,这些变化已经对人类和其它生物赖以生存的地球生态环境造成了极大威胁,环境保护成为人类又一迫切需要解决的难题。

能源短缺和环境污染已经成为目前人类社会所面临的巨大挑战。为了维持各自国家经济的可持续发展,许多国家政府正大力开发化石能源的替代产品。目前各国能源政策主要集中在以下三个方面:节能<sup>[5]</sup>,提高能源利用效率<sup>[6]</sup>和新能源的开发利用<sup>[7, 8]</sup>。其中可再生能源的开发利用更是受到全世界的高度重视,很多欧洲国家通过立法和制定优惠政策等措施鼓励可再生能源的发展。英国除了在电价和税收方面鼓励生物质发电技术的发展外,还成立了生物质专责小组(The Biomass Task Force)专门负责生物质的开发和利用<sup>[9]</sup>。丹麦在 2001 年就制定的能源发展计划中,明确提出增大风能利用规模<sup>[10]</sup>。Pacala 等<sup>[11]</sup>(2004)和 Hoffert

等<sup>[12]</sup> (2002) 认为, 要降低能源消耗对生态环境带来的压力, 就需要建立包括核能、太阳能、氢能、风能、化石燃料和生物燃料等多种能源资源形式并存的能源体系。可以预见, 不久的将来, 能源结构将要发生巨大的变革, 而且合理开发和利用包括生物质能源在内的可再生能源, 对于建立可持续发展的能源系统, 促进社会经济的发展 and 生态环境的改善具有重大意义。

## 1.2 生物质能源的开发利用

### 1.2.1 生物质能及其主要特点

生物质能是指蕴藏在生物质中的能量, 是太阳能以化学能形式贮存在生物质中的一种能量形式, 直接或间接来源于植物的光合作用<sup>[13]</sup>。生物质包括薪柴、农林作物、农作物残渣、动物粪便和生活垃圾等<sup>[14, 15]</sup>。生物质能的蕴藏量极大。据估计, 全球每年经光合作用产生的生物质大约有  $1.8 \times 10^{11}$  t, 相当于全世界能源总消耗量的 10 倍左右<sup>[4]</sup>。

生物质具有挥发份高、炭活性高、含氢量高、硫氮含量低、灰分低的优点。与矿物燃料相比, 氮、硫的含量都较低, 使开发生物质能源导致空气污染和酸雨现象的趋势明显降低<sup>[16]</sup>。如将生物质燃烧利用, 则大气中的氧和生物质中的碳相互作用生成  $\text{CO}_2$  和水, 而大气中的  $\text{CO}_2$  和地面上的水经过光合作用又可以形成生物质中的碳水化合物, 所以这个过程是循环的。其利用过程没有增加大气中  $\text{CO}_2$  的含量, 即  $\text{CO}_2$  零排放。这对于缓解日益严重的地球“温室效应”具有重要意义<sup>[16]</sup>。

生物质能也是一种可再生能源, 通过植物光合作用重复产生, 并且再生周期比较短, 具有取之不竭、用之不尽的特点。这与传统的化石能源不同, 可视为永久能源<sup>[17]</sup>。所以, 能源专家认为生物质能源具有无限发展的潜力, 可以成为 21 世纪的主要能源之一, 对其广泛开发利用是国家能源战略的必然选择<sup>[18]</sup>。

### 1.2.2 生物质能开发利用的现状

近年来, 生物质能源得到了大力的发展, 已经成为世界能源结构中重要的组成部分。据 Parikka M 报道<sup>[19]</sup>: 2004 年全球生物质能产量已经达到  $1.0 \times 10^{20}$  J 左右, 其中 40% 可以被当前开发利用。生物质能已经成为仅次于煤炭、石油、天然气的第四大能源, 在整个能源消耗中, 生物质能占总能耗的 10~14%, 但在发展中国家中可以占到 40% 以上<sup>[14]</sup>。作为清洁的可再生能源, 生物质能的利用已经

成为了全世界的共识。各国政府均在努力提高生物质能在其能源结构中的占有率,生物质能对国家经济的影响力随着其能源地位的提高而不断增强。2003年,欧盟生物质能占到其总能源输出的4%,2000年到2004年之间,欧盟生物质供热增长了20%,发电增长了60%<sup>[20]</sup>。目前,生物质能在奥地利和瑞典两国的基本能源消费中已分别占到10%和16%<sup>[21]</sup>。

生物质能的转换利用形式变化多样,主要技术大致可分为下列三种方式:一是直接燃烧,二是通过热化学技术转化成优质的生物燃料,三是通过生物化学技术转化成优质的流态燃料<sup>[13]</sup>。例如:美国的一些工厂利用牧场厩肥和其他有机废物,由微生物转变成甲烷和二氧化碳;德国、荷兰、意大利等国家利用秸秆、柴草、玉米芯、废木料等农林废弃物,通过热化学转化制备出液体和气体燃料;印度以稻谷和可可壳为原料,研制出了生物质气化发电装置<sup>[13, 14, 22]</sup>。目前我国农村仍以柴灶直接燃烧的利用方式为主,每年直接燃烧秸秆、薪柴总能耗约为 $2.64 \times 10^8$  t标准煤,占农村能耗的79.3%<sup>[23]</sup>。但是据统计,秸秆、薪柴用于炉灶中直接燃烧热效率平均只有14%,因此大量能量资源未能有效利用。而在发达国家,生物质作为能源的利用,多采用高投入、高产出的方式,建设大型的生物质能转化工程,将传统的生物质能转化为现代能源利用。

美国从1979年开始采用流化床技术燃烧生物质燃料发电。近几年采用循环流化床技术,开发出“生物质综合气化-燃气轮机发电系统”的成套设备,实现了高效、洁净利用生物质能源<sup>[13]</sup>。目前美国有350多座生物质发电站,发电装机总容量达700兆瓦(MW)<sup>[24]</sup>。瑞典积极鼓励采用先进的燃烧技术,充分利用农林业残余物及城市垃圾,其生物质能的利用量已经达到55千瓦时(kWh),占全国总能耗的16.1%<sup>[13]</sup>。奥地利也成功地推行建立燃烧木质能源的区域供电计划,目前已有八九十个容量为1000~2000kW的区域供热站,年供热 $1.0 \times 10^{10}$  MJ<sup>[24]</sup>。此外,丹麦、荷兰、德国、意大利、瑞士等许多欧洲国家在生物质的热化学转换上取得了很大的进展。

自“七五”以来,我国多家高校以及科研机构积极的投入了生物质能源的开发利用,如哈尔滨工业大学、中国农科院、广州能源所、浙江大学、中科院化冶所、大连科学院等都在开发利用生物质能源。另外,我国同样开展了生物质高品质转换装置和利用技术的研制和开发,并在生物质气化、液化、高效燃烧、致密成型等多个方面取得了显著的成果,其中生物质的气化已进入应用阶段,尤其是



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库